

NOME: Ana Sofia da Silva Valbordo Róis

DOUTORAMENTO EM: Biologia

ORIENTADOR(A): Dr. Ana Cristina Delaunay Caperta

COORIENTADOR(A): Dr. Timothy F. Sharbel

DATA: 29-04-2014

TÍTULO DA TESE: Strategies for Conservation of Rare and Endemic Species: Characterization of Genetic and Epigenetic Variation and Unusual Reproductive Biology of Coastal Species from *Limonium ovalifolium* and *Limonium binervosum* Complexes (*Plumbaginaceae*).

RESUMO

O género *Limonium* Mill. (*Plumbaginaceae*) está entre géneros melhor representados nos habitats costeiros. Em Portugal Continental, dois grupos de espécies taxonomicamente complexos, o complexo diplóide *Limonium ovalifolium* e complexo tetraplóide, *Limonium binervosum*, estão presentes. As espécies de cada complexo apresentam semelhanças morfológicas. Estas espécies estão ameaçadas em resultado de impactos antrópicos negativos nas áreas costeiras.

Os objetivos do estudo aqui presente foram recolher informação sobre corologia, carilogia, variação genética e epigenética de populações naturais e biologia reprodutiva daquelas espécies. A comparação do número de cromossomas revelou a presença de indivíduos aneuploides em espécies de ambos os complexos. Análises da micro- esporogénese e gametogénese masculina mostraram que, nos diplóides a meiose é regular e os grãos de pólen são viáveis, contrariamente ao que é observado nos tetraplóides. Estudos de heteromorfismos florais, testes de polinização e análises citoembriológicas demonstraram que os diplóides são apomíticos facultativos, e os tetraplóides são apomíticos obrigatórios. A análise de polimorfismos amplificados sensíveis à metilação revelou uma modesta diferenciação genética e epigenética entre espécies e populações. Estudos filogeográficos usando sequências de DNA do cloroplasto demonstraram a partilha de haplótipos entre espécies de ambos os complexos, indicando hibridação entre as mesmas.

Esta tese oferece uma perceção mais profunda destes complexos taxonómicos para desenhar melhores estratégias de conservação *in situ* e *ex situ*, e uma base para projetos científicos em curso e futuros relacionados com a expressão de apomixia, bem como a evolução do genoma em *Limonium* spp..

Palavras-chave: Apomixia, conservação, polimorfismos cariológicos, *Limonium*, genética e epigenética de populações.

TITLE: Strategies for Conservation of Rare and Endemic Species: Characterization of Genetic and Epigenetic Variation and Unusual Reproductive Biology of Coastal Species from *Limonium ovalifolium* and *Limonium binervosum* Complexes (*Plumbaginaceae*).

ABSTRACT

Limonium Mill. (*Plumbaginaceae*) is among the best represented genus in coastal habitats. In Continental Portugal, two taxonomically complex groups, diploid *Limonium ovalifolium* and tetraploid *Limonium binervosum* complexes are present, and species within these complexes present morphological similarities. These species are threatened as a result of negative anthropic impacts in coastal areas.

The aims of the study presented in here were to collect information on chorology, karyology, natural population genetic and epigenetic variation, and reproductive biology of those species. A comparison of populations' chromosome numbers revealed the presence of aneuploid individuals in species of both complexes. Male micro- sporogenesis and gametogenesis analyses showed regular meiosis and viable pollen grains formation in diploids as opposed to tetraploids. Floral heteromorphisms studies, pollination experiments and cytoembryological analyses demonstrated facultative apomixis in diploids and obligate apomixis in tetraploids. Analysis of methylation sensitive amplification polymorphisms revealed modest genetic and epigenetic differentiation among species populations'. Phylogeographic studies using chloroplast DNA marker sequences demonstrated a large amount of haplotype sharing indicating hybridization among species.

This thesis offers deeper insights into these taxonomic complexes for better design conservation strategies *in situ* and *ex situ*, and a basis for ongoing and future research projects dealing with the expression of apomixis as well as genome evolution in *Limonium* spp..

Key-Words: Apomixis, conservation, karyological polymorphisms, *Limonium*, population genetics and epigenetics.